

丙二醛(MDA)试剂盒说明书

(货号：ADS-F-YH002 分光法 48 样 有效期：9 个月)

一、指标介绍：

丙二醛 (MDA) 是由于生物体衰老或在逆境条件下受伤害，其组织或器官膜脂质发生过氧化反应而产生的。它的含量与生物体衰老及逆境伤害有密切关系。MDA 在高温、酸性条件下，与硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 缩合，生成红色产物，在 532nm 有最大吸收峰，进行比色后可估测样品中过氧化脂质的含量；同时测定 600nm 下的吸光度，利用 532nm 与 600nm 下的吸光度的差值计算 MDA 的含量。

二、试剂盒的组分与配制

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
工作液	液体 30mL×1 瓶	4℃避光保存	1. 若有沉淀析出，50℃水浴至溶解。溶解后一个月内使用完毕可室温避光保存，长期保存则需 4 度避光保存； 2. 保存期间若有沉淀析出可再次 50℃水浴至溶解待用。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，在 4℃ 或冰浴进行匀浆（使用各类常见电动匀浆器或超声破碎）。4℃ 约 12,000rpm 离心 10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、检测步骤

① 打开分光光度计预热 30min（等仪器过自检程序亦可），蒸馏水调零，同时水浴锅加热到 90-95℃。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管
工作液	600
样本	400
混匀后，在 90-95℃水浴中保温 30min，取出放冰上冷却，25℃,12000rpm 离心 10min，转移全部上清液于 1mL 玻璃比色皿	

中，分别于 532nm 和 600nm 处读取吸光度 A， $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ 。

【注】：若是样本量极少的血清，可减少加样体积 V1（如由 400μL 减至 50μL，并用生理盐水或蒸馏水补齐 400μL），则改变后的加样量 V1 需重新代入公式计算。

五、结果计算：

1、按样本鲜重计算：

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) = 16.1 \times \Delta A \div W$$

2、按蛋白浓度计算：

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol/mg Prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (Cpr \times V1 \div V) = 16.1 \times \Delta A \div Cpr$$

3、按液体体积：

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 = 16.1 \times \Delta A$$

4、按细胞数量计算：

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) = 0.032 \times \Delta A$$

V---样本提取液的总体积，1 mL；

V1---加入反应体系样本体积，0.4mL；

V2---样本加入量与工作液总反应液体积， 1×10^{-3} L； d---比色皿光径，1cm；

ϵ ---MDA 摩尔消光系数， 155×10^3 L/mol /cm；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万。

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。